

PCT

WELTOORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICH NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁵ : A61K 37/52 // A61K 37/62 (A61K 37/52, 31/725) (A61K 37/52 A61K 37/02)	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 91/04046 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 4. April 1991 (04.04.91)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP90/01541		(81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), BE (europäisches Patent), CA, CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent)*, DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), JP, LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), SE (europäisches Patent), US.
(22) Internationales Anmeldedatum: 12. September 1990 (12.09.90)		
(30) Prioritätsdaten: P 39 30 961.4 15. September 1989 (15.09.89) DE P 39 36 594.8 3. November 1989 (03.11.89) DE		Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>
(71) Anmelder (<i>für alle Bestimmungsstaaten ausser US</i>): BASF AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Carl-Bosch-Strasse 38, D-6700 Ludwigshafen (DE).		
(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (<i>nur für US</i>) : BIALOJAN, Siegfried [DE/DE]; Gartenstrasse 34, D-6836 Oftersheim (DE). FRIEDRICH, Thomas [DE/DE]; Saalbaustrasse 22-24, D-6100 Darmstadt (DE). MEYER, Thomas [DE/DE]; Tullastrasse 13, D-6800 Mannheim 1 (DE). STRUBE, Karl-Hermann [DE/DE]; Kurt-Schumacher-Strasse 49a, D-6720 Speyer (DE).		
(54) Title: GAMMA GLUTAMYL TRANSFERASES FOR TREATING DISEASES		
(54) Bezeichnung: γ -GLUTAMYL-TRANSFERASEN ZUR BEHANDLUNG VON KRANKHEITEN		
(57) Abstract		The description relates to the use of gamma glutamyl transferases in the treatment of diseases.
(57) Zusammenfassung		Es wird die Verwendung von γ -Glutamyl-Transferasen zur Verwendung bei der Bekämpfung von Krankheiten beschrieben.

* Siehe Rückseite

BENENNUNGEN VON "DE"

Bis auf weiteres hat jede Benennung von "DE" in einer internationalen Anmeldung, deren internationaler Anmeldetag vor dem 3. Oktober 1990 liegt, Wirkung im Gebiet der Bundesrepublik Deutschland mit Ausnahme des Gebietes der früheren DDR.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	ES	Spanien	MG	Madagaskar
AU	Australien	FI	Finnland	ML	Mall
BB	Barbados	FR	Frankreich	MR	Mauritanien
BE	Belgien	GA	Gabon	MW	Malawi
BF	Burkina Fasso	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BG	Bulgarien	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BJ	Benin	HU	Ungarn	PL	Polen
BR	Brasilien	IT	Italien	RO	Rumänien
CA	Kanada	JP	Japan	SD	Sudan
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CG	Kongo	KR	Republik Korea	SN	Senegal
CH	Schweiz	LJ	Liechtenstein	SU	Soviet Union
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
DE	Deutschland	LUX	Luxemburg	TG	Togo
DK	Dänemark	MC	Monac	oUS	Vereinigte Staaten von Amerika

γ -Glutamyl-Transferasen zur Behandlung von Krankheiten

Beschreibung

5 Es ist bereits bekannt, daß man mit Proteinen, wie TPA, Urokinase oder Streptokinase, Blutgerinnssel auflösen kann. Diese Proteine führen dazu, daß das im Blutgerinnssel vorhandene Fibrin durch Spaltung von Peptidbindungen depolymerisiert und löslich gemacht wird.

10 Weiter sind γ -Glutamyl-Transferasen bekannt. Diese Proteine dienten bisher nur als Markerenzyme (Clin. Chem. 15, 124 (1969)), denen zelluläre Aufgaben zugeschrieben wurden. Therapeutisch wurden sie bislang nicht eingesetzt, vielmehr wurden sie nur für diagnostische Zwecke verwendet. Überraschenderweise konnte nun gezeigt werden, daß γ -Glutamyl-Transferasen 15 in der Lage sind, Fibrin zu destabilisieren.

Gegenstand der Erfindung sind γ -Glutamyl-Transferasen zur Verwendung bei der Bekämpfung von Krankheiten.

20 Als Krankheiten, die mit γ -Glutamyl-Transferasen behandelt werden können, sind insbesondere solche zu nennen, die durch Bildung von Blutgerinnseln hervorgerufen werden. Hierzu gehören Myokardinfarkt, Atherosklerose und Venenthrombose. Weiter kommen zur Behandlung mit γ -Glutamyl-Transferasen Erkrankungen in Betracht, die durch metastasierende Tumoren verursacht 25 werden. Hierzu gehören insbesondere Bronchial-, Prostata- und Mammakarzinome sowie Melanome.

Die Behandlung kann sowohl im akuten Fall als auch prophylaktisch erfolgen.

30 Bevorzugt sind γ -Glutamyl-Transferasen humanen Ursprungs, da sie im menschlichen Körper keine Antikörperbildung verursachen.

γ -Glutamyl-Transferasen spalten spezifisch γ -Glutamyl(ϵ -lysyl)-Isopeptid-bindungen oder andere γ -Glutamyl-Isopeptidbindungen durch den Transfer eines γ -Glutamylrestes auf eine andere Aminosäure oder durch Hydrolyse. Solche γ -Glutamyl-Isopeptidbindungen kommen in Blutgerinnseln vor. γ -Glutamyl-Transferasen wirken daher spezifisch auf die Quervernetzung im Blutgerinnssel, ohne normale Peptidbindungen anzugreifen.

40 Auch freigesetzte Tumorzellen können sich über solche Isopeptidbindungen in fremden Geweben verankern und dem Immunsystem durch eine Ummantelung mit Fibrin entgehen. Daraus ergibt sich die Möglichkeit, γ -Glutamyl-Transferasen auch zur Bekämpfung von Tumorerkrankungen einzusetzen.

Durch Kombination mit anderen Fibrinolytika wie Urokinase, Streptokinase oder tPA lässt sich die fibrinolytische Aktivität der γ -Glutamyl-Transferasen noch verbessern. Das gleiche gilt für die antithrombotische Wirkung von Kombinationen mit Antithrombotika, wie Heparin oder Hirudin.

5

Wichtig für die Anwendung als Therapeutikum ist einerseits die enzymatische Aktivität der γ -Glutamyl-Transferasen und andererseits die Ähnlichkeit mit dem körpereigenen Protein. Diese Forderungen erfüllen auch verkürzte Polypeptide auf der Basis des menschlichen Enzyms sowie leicht veränderte Peptidsequenzen. Solche Muteine, die sich durch Austausch, Deletion oder Addition einer oder mehrerer Aminosäuren von menschlicher γ -Glutamyl-Transferase unterscheiden, lassen sich gentechnisch teilweise leichter herstellen und können verbesserte Eigenschaften besitzen, wie verminderten Abbau durch proteolytische Enzyme.

10

Die Behandlung mit γ -Glutamyl-Transferasen kann mit den Substanzen selbst erfolgen oder aber auch mit Substanzen, die im Körper die Bildung von γ -Glutamyl-Transferasen oder deren Sekretion in den Blutkreislauf induzieren.

15

Das bei entzündlichen Prozessen entstehende Leukotrien C₄ wird durch die γ -Glutamyl-Transferase in das Leukotrien D₄ umgewandelt. Eine Dipeptidase wandelt Leukotrien D₄ in das nahezu unwirksame Leukotrien E₄ um. Daher können entzündliche Prozesse durch Gabe von Glutamyl-Transferasen, 20 vorzugsweise in Kombination mit Dipeptidasen, bekämpft werden.

Die γ -Glutamyl-Transferasen werden in Mengen von 10 bis 500 mg pro Patient und Tag angewendet. Die Behandlung erstreckt sich über einen längeren Zeitraum. Die Anwendung der γ -Glutamyl-Transferasen erfolgt parenteral, 25 vorzugsweise intravenös.

Da für die Herstellung von γ -Glutamyl-Transferasen humanen Ursprungs große Mengen an Gewebe benötigt werden, ist es zweckmäßig, die Transferasen gentechnisch herzustellen. Hierzu kann man nach Konstruktion der 30 entsprechenden DNA-Expressionsrektoren sowohl prokaryontische (z.B. *E. coli*, *B. subtilis*) als auch eukaryontische Expressionssysteme (Hefen, Pilze, höhere Zellen) verwenden.

Beispiel

40

10 g γ -Glutamyl-Transferasen werden in 250 ml PBS (0,15 M Phosphat-gepufferte physiologische Kochsalzlösung pH 7,4) gelöst und nach Sterilfiltration jeweils 5 ml in Ampullen gefüllt.

Patentansprüche

1. γ -Glutamyl-Transferasen, deren Muteine oder Teilsequenzen zur Verwendung bei der Bekämpfung von Krankheiten.
- 5 2. Menschliche γ -Glutamyl-Transferasen zur Verwendung bei der Bekämpfung von Krankheiten.
- 10 3. Muteine oder Teilsequenzen γ -Glutamyl-Transferasen zur Verwendung bei der Bekämpfung von Krankheiten.
- 15 4. Verwendung von γ -Glutamyl-Transferasen, deren Muteinen oder Teilsequenzen zur Bekämpfung von Krankheiten, die durch Blutgerinnung hervorgerufen werden.
- 20 5. Verwendung von γ -Glutamyl-Transferasen, deren Muteinen oder Teilsequenzen zur Bekämpfung von Krankheiten, die durch metastasierende Tumoren verursacht werden.
6. Verwendung menschlicher γ -Glutamyl-Transferasen gemäß Anspruch 4 oder 5.
7. Parenteral verabfolgbares Arzneimittel, enthaltend eine γ -Glutamyl-Transferase und ein Fibrinolytikum.
- 25 8. Parenteral verabfolgbares Arzneimittel, enthaltend eine γ -Glutamyl-Transferase und ein Antithrombotikum.
9. Parenteral verabfolgbares Arzneimittel gemäß Anspruch 7 oder 8, dadurch gekennzeichnet, daß die γ -Glutamyl-Transferase humanen Ursprungs ist.
- 30 10. Verwendung von γ -Glutamyl-Transferasen-Induktoren zur Bekämpfung von Krankheiten, die durch Blutgerinnung oder metastasierende Tumoren hervorgerufen werden.
- 35 11. Verwendung von γ -Glutamyl-Transferasen alleine oder in Kombination mit einer Dipeptidase zur Bekämpfung von Krankheiten, die durch einen erhöhten Leukotrienspiegel verursacht sind.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/EP 90/01541

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (if several classification symbols apply, indicate all) *

According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC

Int.Cl. ⁵ A 61 K 37/52, //A 61 K 37/62, (A 61 K 37/52, 31;725),
(A 61 K 37/52, 37:02)

II. FIELDS SEARCHED

Minimum Documentation Searched ?

Classification System	Classification Symbols
Int.Cl. ⁵	A 61 K

Documentation Searched other than Minimum Documentation
to the Extent that such Documents are included in the Fields Searched *

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT*

Category *	Citation of Document, ¹¹ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³
	No references found.	

* Special categories of cited documents: ¹⁰

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

IV. CERTIFICATION

Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report
30 November 1990 (30.11.90)	19 December 1990 (19.12.90)
International Searching Authority EUROPEAN PATENT OFFICE	Signature of Authorized Officer

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM THE SECOND SHEET

V. OBSERVATIONS WHERE CERTAIN CLAIMS WERE FOUND UNSEARCHABLE¹

This International search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2) (a) for the following reasons:

1. Claim numbers * because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

*4-6,10,11 see the rule 39.1 (iv) of PCT
(iv) methods for treatment of the human or animal body by surgery or therapy, as well as diagnostic methods

2. Claim numbers....., because they relate to parts of the International application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International search can be carried out, specifically:

3. Claim numbers....., because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of PCT Rule 5.4(a).

VI. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING²

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International search report covers all searchable claims of the International application.

2. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International search report covers only those claims of the International application for which fees were paid, specifically claims:

3. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claim numbers:

4. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, the International Searching Authority did not invite payment of any additional fee.

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 90/01541

I. KLASSEFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationsymbolen sind alle anzugeben) ⁶		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC Int.Cl ⁵ A 61 K 37/52, //A 61 K 37/62, (A 61 K 37/52, 31:725), (A 61 K 37/52, 37:02)		
II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff ⁷		
Klassifikationssystem	Klassifikationsymbole	
Int.Cl. ⁵	A 61 K	
Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörnde Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen ⁸		
III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN⁹		
Art [*]	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. ¹³
	Keine Entgegenhaltungen.	
<p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen¹⁰: "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
IV. BESCHEINIGUNG		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts	
30. November 1990	12. 90	
Internationale Recherchenbehörde	Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten	
Europäisches Patentamt	F.W. HECK	

WEITERE ANGABEN ZU BLATT 2

V. BEMERKUNGEN ZU DEN ANSPRÜCHEN, DIE SICH ALS NICHT RECHERCHIERBAR ERWIESEN HABEN¹

Gemäß Artikel 17 Absatz 2 Buchstabe a sind bestimmte Ansprüche aus folgenden Gründen nicht Gegenstand der internationalen Recherche gewesen:

1. Ansprüche Nr.*, weil sie sich auf Gegenstände beziehen, die zu recherchieren die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich *4-6, 10, 11 siehe PCT Regel 39.1(iv)
Verfahren zur chirurgischen oder therapeutischen Behandlung des menschlichen oder tierischen Körpers, sowie Diagnostizierverfahren
2. Ansprüche Nr., weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. Ansprüche Nr., weil sie abhängige Ansprüche und nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) PCT abgefaßt sind.

VI.: BEMERKUNGEN BEI MANGELNDER EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG²

Die Internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich der internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche der internationalen Anmeldung.
2. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich der internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren gezahlt worden sind, nämlich
3. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; sie ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:
4. Da für alle recherchierbaren Ansprüche eine Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Internationale Recherchenbehörde eine solche Gebühr nicht verlangt.

Bemerkung hinsichtlich eines Widerspruchs

- Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.